

⑬ 公開特許公報(A)

昭60-256461

⑭ Int.Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑮ 公開 昭和60年(1985)12月18日

A 61 L 27/00

6779-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全7頁) 十 /

⑯ 発明の名称 骨欠損部及び空隙部充てん用組成物調製用キット

⑰ 特 願 昭59-109694

⑱ 出 願 昭59(1984)5月31日

⑲ 発 明 者 黒 沢 尚 東京都江戸川区西葛西3-9番9-912
 ⑲ 発 明 者 村 瀬 研 一 東京都江戸川区西葛西6-10番13-401号
 ⑲ 発 明 者 西 植 秀 雄 大東市赤井2丁目3番6号
 ⑲ 発 明 者 北 川 修 三 枚方市北船橋町56番地
 ⑲ 発 明 者 西 田 正 行 長岡京市河陽が丘2丁目12-1
 ⑲ 発 明 者 尾 野 幹 也 飯能市大字中山382番地1
 ⑲ 出 願 人 株式会社 ミドリ十字 大阪市東区今橋1丁目15番地の1
 ⑲ 出 願 人 三菱鉱業セメント株式 東京都千代田区丸の内1丁目5番1号
 会社
 ⑲ 代 理 人 弁理士 酒 井 一 外2名
 最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称

骨欠損部及び空隙部充てん用組成物調製用
キット

2. 特許請求の範囲

リン酸カルシウム化合物と、フィブリノーゲン
と、トロンビンと、塩化カルシウムとから少なく
とも構成されてなる骨欠損部及び空隙部充てん用
組成物調製用キット。

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は骨欠損部及び空隙部に充てんし、充て
ん個所に新生骨を生成させるための充てん用組成
物を調製するためのキットに関する。

〔従来技術〕

外科あるいは整形外科の分野においては、骨折
や骨腫瘍の切除などにより骨に欠損部あるいは空
隙部を生じ、また歯科の分野においても歯槽膿漏
による顎骨の消耗欠損等が起こり、当該個所の補
綴を必要とする場合にしばしば遭遇する。従来か

かる場合には患者本人の腸骨等を切除し、骨欠損
個所に充てんし、骨組織の欠損あるいは空隙をう
めるとともに当該組織の回復治療を早めるという
方法が多くの場合用いられている。しかしながら、
この方法を用いるには損傷個所以外の正常な骨組
織を切除する必要があることから、患者の苦痛は
大きく、しかも手術に当り、多大の労力を要する。
さらに、骨欠損部等が大きな場合には、それに埋
込むだけの十分な量の自家骨を採取できるとは限
らず、不足分については何らかの代用物を用いる
ことを余儀なくされる。この代用物としては、た
とえば同種骨、異種骨があるが埋込んだ生体組織
と拒絶反応を伴うことなどの点に問題が残されて
おり、手術後の経過は必ずしも良好とはいえず、
未だ実用段階には至っていない。

生体の硬組織代替物質としては、各種金属合金
及び有機物等が用いられてきたが、生体内におけ
る環境下での溶解劣化若しくは生体に対し毒性を
有し、異物反応を伴うといわれており、現在では
生体との親和性に優れ、かつ上記の欠点のないセ

ラミックス系材料が用いられつつある。このセラミックス系材料の中でも生体親和性に優れたアルミナ、カーボン、リン酸三カルシウムあるいはヒドロキシアパタイトの焼結体若しくは単結晶からなる人工骨、人工歯などが開発されつつあり注目を集めている。

これらの焼結体若しくは単結晶を骨欠損部及び空隙部に充てんする試みもなされているが、実際治療を必要とする骨欠損部の形状は一定でなく、かつ、複雑な形状をしており、その形状に適合するようこれらの焼結体若しくは単結晶を加工することは困難であり、さらにこれら焼結体若しくは単結晶を充てんしたとしても、充てんした周囲の骨組織よりも著しく硬いため充てん材周辺でその刺激による骨吸収がおこり、ルーズニングなどの問題が生じ、いまだ実用の域には達していない。

一方、焼結体を機械的方法により、若しくは粉末に可燃性ファイバーを成型時に加えて成型しこれを焼結する方法などにより多孔体とし、これを骨欠損部及び空隙部の充てん材として使用する方

法も考えられるが、これらの方法により作成される多孔体の気孔率は、例えば、セラミックス焼結体を機械的に加工して多孔体化しようとする場合には、その加工性が悪く、しかももろくて破損しやすいところから多量に気孔導入は不可能であり、またさらにセラミックス原料粉末に可燃性ファイバーを加え成型ののち焼結せしめて多孔体を得る場合においても粉末に多量に可燃性ファイバーを入れ成型することは困難であることなどから高気孔率のものは得られない。このため新生骨の生成に必要な生体の骨形成成分の充てん材中への進入が十分でなく充てん材と骨組織が一体化するまでに長期間を必要とするなどの欠点がある。

〔発明の目的〕

従って、本発明の一つの目的は生体適合性にすぐれ、しかも異物反応を伴わず特に短期間に骨組織を形成し、充てん材自体が生体に吸収置換され、特に充てん組成物の中心部に至るまで新生骨を生成し得る骨欠損部及び空隙部充てん用組成物調製用キットを提供することにある。

本発明の他の目的は充てん部における造骨作用を促進し、骨組織欠損個所の構造及び機能を特に速やかに修復及び回復せしめる骨欠損部及び空隙部充てん用組成物調製用キットを提供することにある。

本発明の更に別の目的は新生骨の生成が特に速やかに行われる骨欠損部及び空隙部充てん用組成物調製用キットを提供することにある。

本発明の更に別の目的は充てん個所の形状に適合した形状に成形しやすい骨欠損部及び空隙部充てん用組成物調製用キットを提供することにある。

本発明の上記及びその他の目的は以下の記載から更に明白となる。

〔発明の構成〕

本発明によれば、リン酸カルシウム化合物と、フィブリノーゲンと、トロンビンと、塩化カルシウムとから少なくとも構成されてなる骨欠損部及び空隙部充てん用組成物調製用キットが提供される。

〔発明の説明〕

以下本発明を更に詳述する。

本発明者らは、リン酸カルシウム化合物を骨欠損部及び空隙部に充てんすると新生骨が当該個所に生成することから、リン酸カルシウム化合物の骨形成能力を利用することにまず着目した。本発明に使用し得るリン酸カルシウム化合物としてはリン酸三カルシウム、ヒドロキシアパタイト、リン酸四カルシウム、オキシアパタイト、ピロリン酸カルシウム、フッ素アパタイト、ヒドロキシアパタイトの水酸基の1部がフッ素イオンで置換された化合物及びこれらの混合物を挙げることができるが、これらのうちで新生骨の生成速度が速いもの、すなわちリン酸三カルシウム、ヒドロキシアパタイト、フッ素アパタイト若しくはリン酸四カルシウムのうちから選ばれた1種若しくは2種以上の混合物を用いることが好ましい。中でも、ヒドロキシアパタイトは新生骨生成速度が最も早いことから、最も好ましいものと言える。ヒドロキシアパタイトの中でも500℃以上、特に好ましくは700℃以上で熱処理して得たヒドロキシ

アパタイトが特に新生骨の生成が早く好ましい。熱処理の上限温度については特に限定されるものではないが、ビトロキシアパタイトが分解を開始するので、分解温度以下とすべきである。また本発明にて使用し得るリン酸カルシウム化合物は湿式法、乾式法、水熱法など公知の製造方法により、人工的に合成されたものであっても又、骨などから得られる天然のものを用いてもよい。

一方、本発明において用いるフィブリノーゲンはヒト又は動物の血漿から得られる。生体適合性の観点からヒトを対象とする場合にはヒトの血漿から得られるフィブリノーゲンをまた動物を対象とする場合にはその動物の血漿から得られるフィブリノーゲンを原料として用いる方が好ましい。かようなフィブリノーゲンとしては厚生省薬務局監修の生物学的製剤基準(1979年第201~203頁)に従って製造された医療用乾燥フィブリノーゲンを使用することができ、この市販品として商品名「フィブリノーゲン—ミドリ」〔欄ミドリ十字〕の粉末がある。これは乾燥フィブリノ

ーゲンに凝固性蛋白質及び安定化剤としてクエン酸ナトリウム及びグルコース、フルクトース、マンニット等の単糖類を添加しており、使用に際して注射用蒸留水又はpH6~7の低塩濃度緩衝液に溶解させる。この低塩濃度緩衝液としては0.01~0.03モルのクエン酸緩衝液が好適である。溶解温度は32~36℃であり、溶解に際してフィブリノーゲンを入れた瓶内を減圧状態に維持することが好ましい。このような溶解条件において乾燥フィブリノーゲンの粉末は約2~10W/V%の範囲内で溶ける。また、フィブリノーゲンは粉末のまま使用してもよい。フィブリノーゲンは以下に詳述するように、本発明のキットを用いて骨欠損部及び空隙部充てん用組成物を調製する際に固化剤としてのトロンビン及び塩化カルシウムを加えることにより固化され、フィブリンとなる。

本発明のキットを用いて骨欠損部及び空隙部充てん用組成物の調製にあたっては、前述のリン酸カルシウム化合物の粉末又は粒状物(以下、粉粒体と総称する)又は粉末よりつくった造粒物を用

いる場合と前述のリン酸カルシウム化合物の多孔体を用いる場合とがある。

リン酸カルシウム化合物の粉粒体を用いる場合には、たとえば湿式法の一方法では、沈澱物として得られるので濾過あるいは遠心分離などの手法により溶液から分離した後、乾燥し、次いで粉砕処理することによりリン酸カルシウム化合物の粉粒体を得られる。また、乾式法及び水熱法の場合にも必要に応じ粉砕する。骨などの天然のリン酸カルシウム化合物を用いる場合にも同様に粉砕処理を行なう。いずれの場合にも、粒状物の場合には、最大寸度は欠損部の寸度にもよるが5mm寸度までのものを用いるのが本発明のキットを用いて充てん組成物を形成する上で好ましい。

かようにして得られるリン酸カルシウム化合物の粉粒体を本発明の充てん用組成物調製用キットとしてそのまま用いることもできるが、粒子の結晶性を高め生体適合性を良好とし、かつ細菌による感染及び有機物による拒絶反応を防止するため加熱滅菌を十分行うべきであることなどの理由か

ら、湿式合成法によって得られたリン酸カルシウム化合物の場合には500℃以上、好ましくは700℃以上の温度で焼成ののち、必要あれば適宜粉砕処理を行なって粉粒体となすことが好ましい。

以上各合成法によって得られた粉粒体、それを更に焼成を行なって得た粉粒体には、更にまた、液体、たとえば水又は生理食塩水を加え、転動造粒機などを使用して造粒物とすることもできる。この造粒物の粒径は特に限定されるものではないが本発明の充てん組成物を製造する上及び生体内で造粒物が他部へ流出しないためには0.1~5mm程度が好ましい。

また、別個にフィブリノーゲンを固化してフィブリンにするための固化剤としてトロンビン及び塩化カルシウムを生理食塩水又はクエン酸緩衝液に溶解した混合溶液を調製する。通常トロンビン1~500NIH単位/ml及び塩化カルシウム10~100mmol/mlを含ませるのが好ましく、下限値未満ではフィブリノーゲンの固化が不十分となる場合があり、一方上限値を越えて添加して

も固化作用がさほど変ることがない場合が多い。骨欠損部及び空隙部充てん用組成物の充てん部位によってはフィブリンが溶解されてしまうのを防止するため、前記混合溶液に蛋白分解酵素インヒビターを添加してもよい。蛋白分解酵素インヒビターとしてはプラスミン阻外剤を好ましく使用することができ、たとえばアプロチニン、イブシロンアミノカプロン酸、プラネキサム酸、大豆トリプシン阻外剤などを挙げることができる。蛋白分解酵素インヒビターの添加量は通常100～5000KIE単位/㎖程度である。

次いで、前述のフィブリンノーゲンとリン酸カルシウム化合物との混合物と前記混合溶液とを混合攪拌すると、10～30分程度でトロンビン及び塩化カルシウムがフィブリンノーゲンを不溶化してフィブリンとなり、膠質のフィブリンにリン酸カルシウム化合物の粉粒体又は造粒物が分散された状態の骨欠損部及び空隙部充てん用組成物が得られる。

フィブリンノーゲンとトロンビン及び塩化カルシ

ウムとの固化には10～30分程度の時間を要するのでトロンビン及び塩化カルシウムの混合溶液をフィブリンノーゲン溶液又は粉末に添加してからこれにリン酸カルシウム化合物の粉粒体又は造粒物を添加し攪拌混合して骨欠損部及び空隙部充てん用組成物を得ることもできる。

本発明の骨欠損部及び空隙部充てん用組成物調製用キットはトロンビンとフィブリンノーゲンとを容器にセットしない限り、どのように組合せてもよい。例えば下記のような組合せを挙げることができる。

- (a) リン酸カルシウム化合物及びフィブリンノーゲン溶液又は粉末を含む容器と、トロンビン、塩化カルシウム及び任意に蛋白分解酵素インヒビターからなる混合溶液を含む容器の組合せキット。
- (b) リン酸カルシウム化合物を含む容器と、フィブリンノーゲン溶液又は粉末を含む容器と、トロンビン、塩化カルシウム及び任意に蛋白分解酵素インヒビターからなる混合溶液を含む容器と

からなる組合せキット。

- (c) リン酸カルシウム化合物を含む容器と、フィブリンノーゲン溶液又は粉末を含む容器と、トロンビンを含む容器と、塩化カルシウムを含む容器と、蛋白分解酵素インヒビターを含む容器とからなる組合せキット。

前述のように、本発明の骨欠損部及び空隙部充てん用組成物調製用キットではリン酸カルシウム化合物の多孔体を用いることもできる。この場合にはたとえば、前述のリン酸カルシウム化合物の粉末を蒸留水などの液体に懸濁してスラリー化させ、三次元の網状構造の連続した空孔を有するスポンジ状有機質多孔体にスラリー状のリン酸カルシウム化合物を含浸させた後、乾燥し、加熱して有機質多孔体を燃焼消滅させることによりリン酸カルシウム化合物の多孔体を調製することができる。次いで、リン酸カルシウム化合物を前述のフィブリンノーゲン溶液又は粉末に浸漬した後、トロンビン及び塩化カルシウム及び任意に蛋白分解酵素インヒビターを含む前記混合溶液を滴下し、フ

ィブリンノーゲンを固化させることによりリン酸カルシウム化合物多孔体の連続空孔内にフィブリンが充てんされた骨欠損部及び空隙部充てん用組成物が得られる。前述のように、フィブリンノーゲンとトロンビン及び塩化カルシウムとの反応には若干時間を要するので、トロンビン及び塩化カルシウムを含む混合溶液をフィブリンノーゲン溶液又は粉末に添加し、直ちにリン酸カルシウム化合物多孔体を浸漬するか若しくは該多孔体に滴下して骨欠損部及び空隙部充てん用組成物を得ることもできる。

リン酸カルシウム化合物の粉粒体、造粒物または多孔体のいずれを用いる場合であっても骨欠損部又は空隙部にリン酸カルシウム化合物を充てんし、次いで前記混合溶液にフィブリンノーゲン溶液又は粉末を添加したものを流し込んでもよいし、逆に前記混合溶液にフィブリンノーゲン溶液又は粉末を添加したものを先に骨欠損部又は空隙部に流し込みあとからリン酸カルシウム化合物を充てんしてもよい。

本発明のキットを用いて調製される骨欠損部及び空隙部充てん用組成物におけるリン酸カルシウム化合物の含有量は最終製品組成物において5～95 vol %で、残余がフィブリンを含むものからなるのが好ましい。リン酸カルシウム化合物が5 vol %未満しか含まれないと新生骨の形成が遅くなることもあり、一方95 vol %を越えるとフィブリンの含有量が少なくなり血管の新生が少なくなってくる。

〔効果〕

リン酸カルシウム化合物は造骨作用を有し、骨欠損部又は空隙部に充てんすると新生骨が形成される。一方、フィブリンはフィブリノーゲンとトロンビンとが作用して得られる硬蛋白質で創傷面を膠着させる働きを有し、この膠着作用により、創傷面に線維芽細胞が発生しやがて線維細胞となり組織が固定されると共に血管が組織内に新生される。故に、本発明では、フィブリンの膠着作用によりリン酸カルシウム化合物を固定した状態で保持し、リン酸カルシウム化合物の造骨作用を促

速すると共に、血管の新生を促進して新生骨の形成を行ない生体組織の修復を速めることができる。特に本発明のキットを用いて調製した骨欠損部及び空隙部充てん用組成物を充てんした際当該組成物の中心部まで血管が新生延長し、速やかに新生骨が形成される。

本発明のキットを用いて調製した骨欠損部及び空隙部充てん用組成物は無菌条件下、生理食塩水あるいはpH 6～7の低温濃度緩衝液、たとえば0.01～0.03 Mのクエン酸緩衝液中に保存しておき、必要に応じて骨欠損部の形状にあわせたものまたはたとえば約1 mm～15 mmの切片として切断しておき必要な量を骨欠損部あるいは空隙部に充てんすることができる。

本発明のキットは容器から取り出し、混合攪拌するだけで容易に骨欠損部及び空隙部充てん用組成物を調製することができるので甚だ便利である。

〔実施例〕

次に、本発明をその実施例につき説明する。

実施例 1

本発明のキットを用いてウサギの血液より抽出精製したフィブリノーゲン60 mgを、クエン酸緩衝液(pH 6)にとかした9%溶液にトロンビン4 NIH単位/ml、アプロチニン3000 KIE単位/mlを含む40 mM塩化カルシウム液1 mlを加えた組成物(以下フィブリン組成物と略す)を調製した。次に、フィブリン組成物に各々ヒドロキシアパタイト粉末(900℃焼成)、リン酸三カルシウム粉末(1150℃焼成)、リン酸四カルシウム粉末(1350℃焼成)を各々体積比1:1で混合し、固化させ本発明の骨欠損部及び空隙部充てん用組成物を調製し、5×4×3 mmの大きさに切り出し0.01 Mクエン酸緩衝液に入れた。

次いで、家兎大腿骨に5×4×3 mmの穴をあけ、本発明の上記組成物を充てんし4週間後の経過を観察した。別に、フィブリン組成物のみ、ヒドロキシアパタイト粉末のみ、リン酸三カルシウム粉末のみ、リン酸四カルシウム粉末のみを上記穴に充てんし、4週後の経過を観察した。この場合コントロールとして穴のみをあけ、何も充てんし

ないものも経過を観察した。

この結果、本発明のキットにより調製した骨欠損部及び空隙部充てん用組成物を充てんした場合には中心部にまで新生骨の生成がみとめられた。中でもフィブリン組成物とヒドロキシアパタイトを組合わせたものが最も新生骨の生成が多かった。

一方、フィブリン組成物のみを充てんした場合及び穴のみをあけた場合には、欠損部は軟組織で満たされており、新生骨は欠損部周囲にわずかにみとめられるのみであった。

ヒドロキシアパタイト、リン酸三カルシウム、リン酸四カルシウムのみを用いた場合には、充てん材内部に新生骨の生成が認められるものの、充てん材の中心部は新生骨がほとんど観察されなかった。

実施例 2

フィブリン組成物とヒドロキシアパタイト粉末(1200℃焼成)を体積比40:1, 20:1, 1:1, 1:20, 1:40の割合で実施例1と同様に混合・固化させ、これを5×4×3 mm

に切断し、実施例1と同様の液に入れた各試料を作製し、家兎大腿骨にあげた $5 \times 4 \times 3$ mmの穴に充てんし、4週後の様子を観察した。

この結果、体積比1:20, 1:1, 20:1で混合したものは穴の中心部にまで新生骨の生成が認められたが、体積比1:40, 40:1で混合したものは穴の中心部にまでは新生骨が生成していなかった。

実施例3

ヒト由来のフィブリノーゲンを用い、実施例1と同様にフィブリン組成物をつくり、これにヒドロキシアパタイト(800℃焼成造粒物、粒径 $2.0 \sim 1.0$ mm)をフィブリン組成物:ヒドロキシアパタイト=1:10(体積比)にて添加し固化させ、これを $5 \times 5 \times 5$ mmに切断して試料を作成し、実施例1と同様の液に入れた。

ヒト大腿骨に生じた骨腫瘍部を切除し、前記試料を充てんし充てん後の経過をレントゲン及び骨シンチグラムにて観察した。レントゲン観察の結果は術後1週から新生骨の生成が認められ、3～

4週後には充てんした試料と生体の骨との境界は不明となった。一方、骨シンチグラムからは術前coldであった腫瘍部は術後hotとなり、旺盛な骨新生が起っていることが示唆された。

実施例4

実施例1にて用いたフィブリノーゲンを含有する溶液にヒドロキシアパタイト多孔体(1200℃焼成、気孔率80%)を浸漬し取り出した後、実施例1にて用いたトロンビン及びアプロチニンを含む塩化カルシウム液を滴下し、本発明の骨欠損部及び空隙部充てん用組成物を調製した。この組成物を $5 \times 4 \times 3$ mmの大きさに切り出して試料を作成し、0.01Mクエン酸緩衝液に入れた。

次いで、家兎大腿骨に $5 \times 4 \times 3$ mmの穴をあけ、上記試料を充てんし4週間後の経過を観察したところ、充てんした試料の中心部にまで新生骨の生成が認められた。

第1頁の続き

②発明者 竹内 啓 泰 埼玉県秩父郡横瀬村大字横瀬1019番地
②発明者 大久保 義 孝 秩父市大字久那396番地

手続補正書 (自発)

昭和 59. 7. 12 日

特許庁長官 志賀 学 殿

1. 事件の表示

昭和59年特許願第109694号

2. 発明の名称

骨欠損部及び空隙部充填用組成物調製用キット

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

株式会社ミドリ十字

三菱鉱業セメント株式会社

4. 代理人

〒105 東京都港区虎ノ門1丁目1番20号

虎ノ門実業会館

(8151) 弁理士 沼田 孝一

電話(591)1516 (代表) (ほか2名)

5. 補正の対象

明細書の「発明の詳細な説明」の項

6. 補正の内容

別紙のとおり

本願明細書中、下記の個所を次の通り、補正する。

頁	行	訂正前	訂正後
7	12	フレブリノーゲン	フィブリノーゲン
10	6	粉粒体には	粉粒体に
11	6	阻外剤	阻害剤
"	9	"	"
13	3	粉末含む	粉末を含む
16	9	低温濃度緩衝液	低塩濃度緩衝液

特許法第17条の2の規定による補正の掲載

平 3. 3. 5発行

昭和 59 年特許願第 109694 号 (特開昭
60-256461 号, 昭和 60 年 12 月 18 日
発行 公開特許公報 60-2565 号掲載) につ
いては特許法第17条の2の規定による補正があっ
たので下記のとおり掲載する。 1 (2)

Int. Cl. '5	識別 記号	庁内整理番号
A61L 27/00		6971-4C

60-256461
手続補正書 (自発)

平成 2年11月13日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示
昭和59年 特 許 願 第1,09694号
2. 発明の名称
骨欠損部及び空隙部充てん用組成物調製用キット
3. 補正をする者
事件との関係 特許出願人
株 式 会 社 ミ ド リ 十 字
三 菱 鉱 業 セ メ ン ト 株 式 会 社
4. 代 理 人
〒105 東京都港区虎ノ門1丁目1番20号
虎ノ門実業会館
(8151) 井理士 酒 井 —
電話 (591)1516(代表)(ほか2名)
5. 補正の対象
明細書の「発明の詳細な説明」の項
6. 補正の内容
本願明細書第7頁19行「フィブリノーゲン
ーミドリ」を『フィブリノーゲンーミドリ』と
補正する。